



8

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11) Publication number: **11043438 A**(43) Date of publication of application: **16.02.99**

(51) Int. Cl

A61K 31/70
A23K 1/16
A23L 1/30
A23L 1/304
C13K 13/00
// A61K 47/26

(21) Application number: **09217006**(22) Date of filing: **29.07.97**(71) Applicant: **NIPPON BEET SUGAR MFG CO LTD**

(72) Inventor: **HARA HIROSHI**
KASAI TAKANORI
TOMITA FUSAO
SAYAMA KOJI

(54) CALCIUM ABSORPTION-ENHANCING COMPOSITION**(57) Abstract:**

PROBLEM TO BE SOLVED: To obtain the subject composition which possesses excellent Ca absorption-enhancing effect and is useful for medicine, food and drink, modified milk powder, enteral nutrients and feed additive by formulating a difructose anhydride as an active ingredient.

SOLUTION: This calcium absorption-enhancing composition is obtained by formulating at least 0.5 wt. fold, preferably 3 wt. fold or more, of a difructose

anhydride III based on calcium in the composition and further preferably adding an oligosaccharide (e.g. fructooligosaccharide, raffinose, etc.), as active ingredients. As the food and drink type composition, the forms of solid, paste, liquid and suspension are usable. As the medicine type composition, oral administration using tablets, capsules, granules, powders and syrups is illustrated as the administration form. For example, when intravenously administered, the dosage of 0.01-1000 mg per body weight 1 kg a day to an adult is preferable.

COPYRIGHT: (C)1999,JPO

8

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開平11-43438

(43) 公開日 平成11年(1999) 2月16日

(51) Int.Cl.⁶

識別記号

F I

A 6 1 K 31/70

A D D

A 6 1 K 31/70

A D D

A 2 3 K 1/16

3 0 3

A 2 3 K 1/16

3 0 3 D

A 2 3 L 1/30

A 2 3 L 1/30

Z

1/304

1/304

C 1 3 K 13/00

C 1 3 K 13/00

審査請求 未請求 請求項の数4 F D (全 7 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号

特願平9-217006

(22) 出願日

平成9年(1997) 7月29日

特許法第30条第1項適用申請有り 平成9年3月5日
社団法人日本農芸化学会発行の「日本農芸化学会誌 71
巻臨時増刊号」に発表

(71) 出願人 000231981

日本甜菜製糖株式会社

東京都中央区京橋2丁目3番13号

(72) 発明者 原 博

北海道札幌市北区北9条西9丁目 北海道
大学 農学部内

(72) 発明者 葛西 隆則

北海道札幌市北区北9条西9丁目 北海道
大学 農学部内

(72) 発明者 富田 房男

北海道札幌市北区北9条西9丁目 北海道
大学 農学部内

(74) 代理人 弁理士 戸田 親男

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 カルシウム吸収亢進組成物

(57) 【要約】

【解決手段】 ダイフラクトース アンハイドライドII
I (D F A III) を有効成分とするカルシウム吸収亢進
組成物。

【効果】 D F A IIIは天然由来物であるため安全性に
は問題がなく、安全にカルシウムの吸収を亢進させるこ
とができ、他のオリゴ糖を併用すると更に効果が高ま
る。

【特許請求の範囲】

【請求項 1】 ダイフラクトース アンハイドライドIIIを有効成分として含有すること、を特徴とするカルシウム吸収亢進組成物。

【請求項 2】 更に、オリゴ糖を含有すること、を特徴とする請求項 1 に記載の組成物。

【請求項 3】 組成物中のカルシウムに対してダイフラクトース アンハイドライドIIIを重量比で 0.5 倍以上、好ましくは 1 倍以上、更に好ましくは 3 倍以上含有せしめてなること、を特徴とする請求項 1 又は 2 に記載の組成物。

【請求項 4】 組成物がヒト又は動物用の医薬品タイプ又は飲食品タイプの組成物であること、を特徴とする請求項 1～3 のいずれか 1 項に記載の組成物。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】本発明は、カルシウム吸収亢進組成物に関するものであり、更に詳細には、ダイフラクトース アンハイドライドIIIを有効成分として含有するカルシウム吸収亢進組成物に関するものである。

【0002】

【従来の技術】食生活が改善されたとはいえ、特に、日本人のカルシウム摂取量は栄養必要量を下回っており、その点の改良が求められている。しかしながら、日本人の平均的な食生活習慣では、充分なカルシウム量を摂取するのは相当困難であるのが現状である。

【0003】一方、最近になって、難消化性の二糖類であるダイフラクトース アンハイドライドIII（以下、DFA III ということもある）の工業的製法が開発され、安定供給が可能となり、そして、DFA III が生理活性としてビフィズス菌増殖作用を有することは明らかにされたが（特公平 3-5788）、カルシウム吸収亢進作用については全く知られていない。

【0004】

【発明が解決しようとする課題】本発明は、このような技術の現状に鑑み、カルシウムの必要量を通常の日本人の食事から摂取するのは相当困難であり、特に幼児、高齢者、病氣中又は予後の患者のように充分な食事量が摂れない人にとっては非常に困難である点に改めて着目し、食事時のカルシウムを増量するのではなく、食事時のカルシウム含有量は従来どおりとしておき、ただし、食事時のカルシウムの体内での吸収を亢進せしめるシステム、換言すれば摂取したカルシウムを体内で有効利用するシステムを開発するという課題を新たに設定した。

【0005】

【課題を解決するための手段】本発明は、上記課題を解決するためになされたものであって、本発明者らは、各方面から鋭意研究の結果、経口摂取した DFA III が体内でのカルシウムの吸収を亢進する作用を有することを見出し、そして更に研究の結果、オリゴ糖との併用も可

能であることも発見し、本発明を完成するに至った。

【0006】すなわち本発明は、DFA III を有効成分とし、更に必要に応じてオリゴ糖を有効成分として含有するカルシウム吸収亢進組成物に関するものであり、本組成物は、医薬品タイプとしてもあるいは飲食品タイプとしても利用することができるものである。以下、本発明について更に詳述する。

【0007】本発明に係る組成物の有効成分として使用する DFA III (difructose anhydride III) は、フラクトース 2 分子が 1, 2' 及び 2, 3' で結合している 2 糖類であって (di-D-fructofuranose-1, 2': 2, 3 dianhydride)、水への溶解性は高いが、甘味は蔗糖の約 1/2 を有する難消化性二糖類である。

【0008】DFA III は、従来、効率的な工業的製法がなかったのであるが、最近になって、イヌリンにイヌラーゼII（還元末端から二糖単位で切断する酵素、特に *Arthrobacter* sp. H 65-7（北大株）や *Arthrobacter globiformis* C11-1（食総研株）等アースロバクター属菌から高活性の酵素が得られる）を作用させることにより、高純度の DFA III を工業的に製造することが可能となり、このようにして製造された DFA III を本発明の有効成分として使用することができる。また、市販されている製品も使用可能である。

【0009】本発明に係る組成物は、DFA III を有効成分として含有するものであって、医薬品タイプ及び／又は飲食品（動物用飼餌料を含む）タイプの組成物として利用することができ、例えば、ヒト又は動物用の医薬品、飲食品、調製粉乳、経腸栄養剤、健康飲食品、飼餌料添加物等各種タイプの組成物として実用に供することができる。

【0010】有効成分の含有量は、特に限定されないが、組成物中のカルシウムに対して重量比で 1～3 倍以上、好ましくは 5 倍以上とするのがよい。しかしながら、長期間に亘って保健上ないし健康維持の目的で摂取する場合には、上記範囲よりも少量であってもよいし、また本有効成分は、安全性について問題がないので、上記範囲よりも多量に使用しても一向にさしつかえない。現にマウスを用いた 10 日間の急性毒性試験の結果、1000mg/kg の経口投与でも死亡例は認められなかった。

【0011】また、本組成物においては、DFA III のほかに、オリゴ糖を更に併用してもよい。オリゴ糖としては、フラクトオリゴ糖、ラフィノースのほか、マルトトリオース、マルトテトラオース、マルトペンタオース、マルトヘキサオース等マルトオリゴ糖；イソマルトオリゴ糖；大豆オリゴ糖；フラクトオリゴ糖；ガラクトオリゴ糖；ベクチンオリゴ糖；マルチュロース；イソラフィノース；パラチノース；ラクチュロース；トレハロース；キシロオリゴ糖、その他が例示されるが、特にカルシウム吸収促進作用を有するオリゴ糖を使用すると好

適であり、その使用量も従来どおりであって格別の限定はなく、この点も本発明の特徴のひとつである。

【0012】飲食品タイプの組成物として使用する場合には、本有効成分（その処理物）をそのまま、使用したり、他の食品ないし食品成分と併用したりして適宜常法にしたがって使用できる。本有効成分を用いる本発明に係る組成物は、固体状（粉末、顆粒状その他）、ペースト状、液状ないし懸濁状のいずれでもよいが、甘味料、酸味料、ビタミン剤その他ドリンク剤製造に常用される各種成分を用いて、健康ドリンクに製剤化することも可能である。

【0013】医薬品タイプの組成物として使用する場合、本有効成分は、種々の形態で投与される。その投与形態としては錠剤、カプセル剤、顆粒剤、散剤、シロップ剤等による経口投与をあげることができる。これらの各種製剤は、常法に従って主薬に賦形剤、結合剤、崩壊剤、滑沢剤、矯味矯臭剤、溶解補助剤、懸濁剤、コーティング剤などの医薬の製剤技術分野において通常使用し（基礎飼料）

カゼイン

コーン油

ミネラルミックス

ビタミンミックス

カルシウム

蔗糖で全量を1kgにする。

【0016】基礎飼料において、ミネラルミックスとしては、MM3の組成（J. Nutr., 109, 2106-2116（1979））を用い、ビタミンミックスとしてはAIN-76の組成（J. Nutr., 107, 1340（1977））を用い、カルシウム源としては炭酸カルシウムを用いた。

【0017】（2）予備飼育後、1群6匹ずつのラットに分け、各群のラットについて2週間の試験飼育を行った。試験飼育中、各群のラットには、DFA III（固形分純度99.7%、日本甜菜製糖（株）製）、あるいは他のオリゴサッカライドとして、フラクトオリゴ糖（固形分純度75%、明治製菓（株）製）、ラフィノース（固形分純度97%、日本甜菜製糖（株）製）を、それぞれ30g/kg飼料含み、カルシウムとして炭酸カルシウムを3g/kg飼料（0.3%Ca）を含む蔗糖ベースの基礎飼料（試験飼料）を、それぞれ与えた。なお、コントロール群（対照群）には基礎飼料のみを与えた。

【0018】また、上記各飼料には、消化管各部位でのカルシウム吸収への寄与を検討するために、非吸収マーカーとして酸化クロムを0.5g/kg飼料添加し、更に粉末セルロースとしてアビスル（Avicel、旭化成工業（株）製）を50g/kg飼料添加した。

【0019】（3）試験飼育最終3日間に出納試験を行い、見かけのカルシウム吸収率を算出した。なお、試験

する既知の補助剤を用いて製剤化することができる。その使用量は症状、年齢、体重、投与方法および剤形によって異なるが、通常は、成人に対して、1日当たり、静脈投与の場合は、体重1kg当たり、0.01mg~1000mgを投与することができ、筋肉投与の場合は同じく0.01mg~1000mgを投与することができ、また、経口投与の場合には同じく0.5~2000mg、好ましくは1~1000mgの範囲で投与するのがよい。

【0014】本発明に係る組成物は、下記する実施例からも明らかなように、すぐれたカルシウム吸収亢進効果を示し、体内におけるカルシウムの吸収を大幅に高めることができる。以下、本発明の実施例について述べる。

【0015】

【実施例1】

（1）SD系の雄ラット（当初体重100g）を、次の組成からなる蔗糖ベースの基礎飼料で、1週間予備飼育した。

250g/kg

50g/kg

29g/kg

11g/kg

0.45%Ca

飼育中は、ラットの糞食によるカルシウム吸収率の上昇を防ぐために、8日目以降、糞食防止キャップをラットの肛門に装着した。また、消化管各部位におけるカルシウム吸収率も算出した。

【0020】（見かけのカルシウム吸収率の測定）バランス期間を3日間設け（11~13日目）、3日間の糞を採取し、試験飼料及び糞中のCaとマーカーとしてのCrを原子吸光法で測定し、Ca/Crの比を算出し、ラットが吸収したCaの割合を算出した。

【0021】すなわち、採取した糞全量を凍結乾燥した後、粉碎し、そのうち100mgを、5mlの混酸（濃硝酸（14N）：濃過塩素酸（60%）=3：1の溶液）で、試験管を用いて湿式灰化した。0.1Nの塩酸で適宜希釈した後、原子吸光分光分析（島津原子吸光分光光度計AA-6400F：島津製作所製）により、CaとCr濃度をそれぞれ測定し、見かけのカルシウム吸収率を次式から算出した。

【0022】見かけのCa吸収率（%）=100×{1-（糞中Ca：Cr）/（食餌中のCa：Cr）}

【0023】得られた結果を図1に示す（図中、縦軸はCrによって測定した見かけのCa吸収率（%）を示す。）その結果から明らかなように、見かけのCaの吸収率は、オリゴサッカライドを含む飼料を与えた群で、対照群に比して有意に高値を示し、その内DFA III群が最も高値を示した。

【0024】（消化管各部位での見かけのカルシウム吸収率の測定）試験飼料を14日間与えた後、大腸、小腸の各腸の内容物を採取し、試験飼料及び糞中のCaとマーカーとしてのCrを原子吸光法で測定し、Ca/Crの比を算出し、各腸におけるCa吸収の割合を算出した。

【0025】すなわち、ラット屠殺時に（14日目）、消化管内容物（結腸、盲腸、回腸下部（回盲部から5cm））を採取し、各々10、25、100mlにメスアップし（その際、内容物が均一になるよう、ポッターホモジナイザー（MINI D.C. STIRRER: EYELA）で充分攪拌した）、そのうち1mlを5mlの混酸で試験管を使って湿式灰化した。0.1Nの塩酸で、適宜希釈した後、原子吸光分光分析により、CaとCr濃度を測定し、各消化管部位での見かけのカルシウム吸収率を次式から算出した。

【0026】各消化管部位での見かけのCa吸収率
 $(\%) = 100 \times \{1 - (\text{消化管内容物中Ca} : \text{Cr})\}$

／（食餌中Ca : Cr）}

【0027】得られた結果を図2に示す。その結果から明らかなように、見かけのCa吸収率は、オリゴサッカライドを含む飼料を与えた群で、対照群に比して有意に高値を示し、その内DFA III群が最も高値を示した。この吸収亢進は、上部消化管、下部消化管ともに寄与していた。なお図中、縦軸はCrによって測定した見かけのCa吸収率（%）を示し、n. s. は有意差なしを示す。

【0028】（消化管内容物の重量測定）盲腸壁の湿重量及び盲腸内容物の湿重量を測定し、併わせてそのpHを測定した。その結果を下記表1に示す。その結果から明らかなように、オリゴ糖を与えることにより、盲腸の壁及び内容物重量は増加する一方、pHは低下すること、しかもその効果はDFA III群が最も高いことがわかる。

【0029】

【表1】

	盲腸壁 g湿重量/100g重量	盲腸内容物 g湿重量	pH
対 照	0.267±0.014 c	1.60±0.237 c	7.35±0.095 a
フラクト オリゴ糖	0.368±0.018 b	2.91±0.290 b	6.83±0.085 b
ラフィノース	0.393±0.010 ab	2.98±0.244 ab	6.22±0.171 b
DFA III	0.429±0.012 a	3.78±0.359 a	6.16±0.077 b
Mean±SEM (n=6, p<0.05)			

【0030】（消化管内容物のカルシウム可溶化率の測定）上記のように採取、そしてメスアップした盲腸及び結腸の内容物のそれぞれ一部を超遠心分離機により10,000rpm、20分間遠心処理し、液相と固相に分離した。液相の一部をとり、除蛋白した後、適宜希釈し、次いで原子吸光分光分析によりカルシウム濃度を測定し、可溶化しているカルシウムとして評価した。

【0031】計算方法は以下のとおりである。

消化管内容物中カルシウム可溶化率（%）＝100×
 $(\text{液相中のCa量}) / (\text{内容物中の全Ca量})$

【0032】得られた結果を図3に示す。その結果から

見かけのCa吸収率（%）

DFA III添加量（%） （DFA III/Ca比）			
0 (0)	0.1 (0.3)	0.3 (1)	0.5 (1.7)
80.2±0.6 b	82.1±0.7 b	83.5±0.6 a	86.0±0.5 a
DFA III添加量（%） （DFA III/Ca比）			
1.0 (3.3)	3.0 (10)	5.0 (16.7)	
92.2±0.6 a	92.0±0.6 a	92.1±0.3 a	

明らかなように、Ca可溶化率は、オリゴサッカライドを含む飼料を与えた群で高値を示し、特に結腸において高い値が示された。

【0033】（DFA IIIによるCa吸収促進効果の用量依存性の検討）上記した試験飼料において、DFA IIIの添加量（%）を、0～5.0%にそれぞれ変えたほかは、上記と同様にして見かけのCa吸収率を測定した。得られた結果を下記表2に示す。

【0034】

【表2】

【0035】上記結果から明らかなように、DFA IIIの添加量は0.2%以上で効果が現われ、0.3%以上、好ましくは1%以上で顕著な効果が奏されることがわかった。したがって、DFA III/Caの重量比で、0.5%以上、好ましくは1倍以上、更に好ましくは3倍以上となるようにDFA IIIを含有せしめればよいことがわかった。

【0036】

【実施例2】反転サック法によるDFA IIIのカルシウム吸収亢進作用を以下により確認した。

【0037】SD系の雄ラット（平均体重302.9±5.89g）を、上記した基礎飼料（0.45%Ca）で予備飼育した後、一夜絶食した。ラットをペントバルビタールで麻酔した後、正中線に沿って腹部を切開し、小腸を摘出し、空腸及び回腸を3cmずつ切断し、これを用いてそれぞれ反転サックを作成した。

【0038】一方、粘膜側緩衝液及び漿膜側緩衝液をそれぞれ用意した。粘膜側緩衝液としては、次の組成を基本とし、これにDFA IIIを0、50、100、200mMそれぞれ添加した緩衝液を作成して試験を行った。

【0039】粘膜側緩衝液：

（30mM Tris-HCl緩衝液、pH7.4）
 NaCl 125mM
 KCl 4mM
 D-グルコース 10mM
 CaCl₂・2H₂O 10mM
 Tris 30mM
 DFA III 0～200mM

【0040】漿膜側緩衝液：

（30mM Tris-HCl緩衝液、pH7.4）
 NaCl 125mM
 KCl 4mM
 D-グルコース 10mM
 CaCl₂・2H₂O 1.25mM
 Tris 30mM

【0041】各反転サックの内部に漿膜側緩衝液を入れ、これをDFA IIIを各濃度添加した。粘膜側緩衝液内にそれぞれ収容し（つまり、反転サックの内部には漿

膜側緩衝液を入れ、反転サックの外側には粘膜側緩衝液を入れておき）、37℃でインキュベートした。

【0042】インキュベーターの栓からカニューレを貫通せしめ、その先端部を反転サック内部に挿入し、0分後、15分後及び30分後に、カニューレの他端部からシリンジによって反転サック内の内容物をそれぞれサンプリングして、Ca吸収（μg/cmサック）を測定した。得られた結果を図4に示す。その結果から明かなように、空腸及び回腸のいずれにおいても、DFA IIIによってすぐれたCa吸収の亢進効果が認められた。

【0043】

【実施例3】結晶グルコース400重量部、DFA III（日本甜菜製糖（株）製品）10重量部、クエン酸7重量部、Na-Caseinate7重量部、アスコルビン酸5重量部、硬化油3重量部を用い、常法にしたがってCa吸収亢進錠菓を製造した。

【0044】

【実施例4】DFA III（日本甜菜製糖（株）製品）50重量部、精製炭酸カルシウム20重量部、ラクトース178重量部、ステアリン酸マグネシウム2重量部を用い、これらの混合物を250mgずつ1号カプセルに充填し、1カプセル内に50mgのDFA IIIを含有するCa吸収亢進カプセル剤を製造した。

【0045】

【発明の効果】本発明によれば、DFA IIIを用いることにより、すぐれたCa吸収亢進効果が奏され、安全にCaの体内への吸収を大幅に促進することが可能となった。

【図面の簡単な説明】

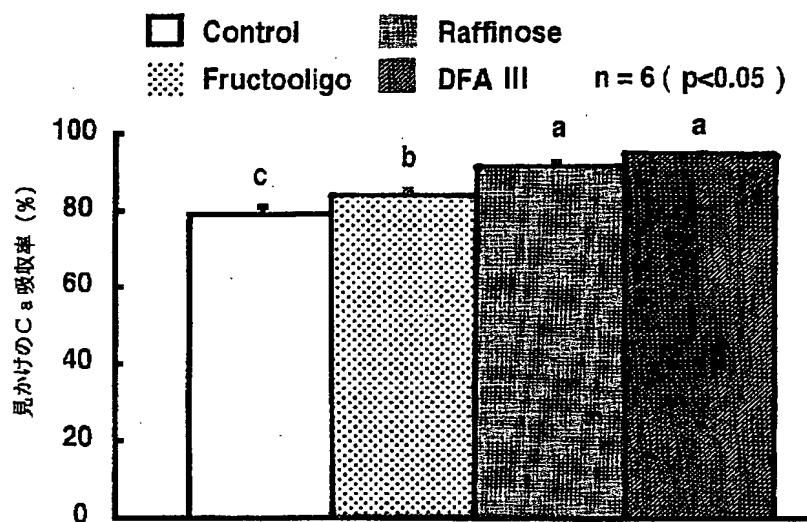
【図1】各種オリゴ糖による見かけのカルシウム吸収率の上昇を示す。

【図2】消化管各部位での見かけのカルシウム吸収率の上昇を示す。

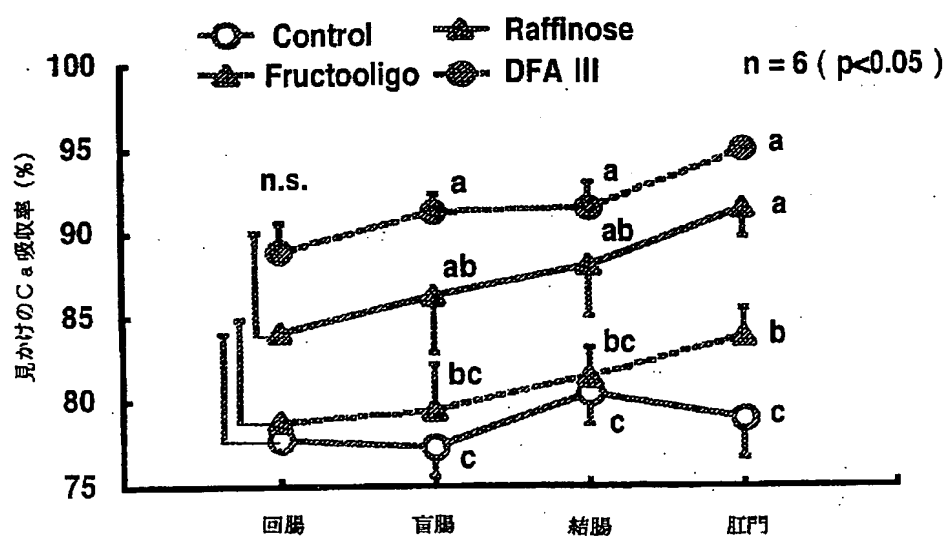
【図3】各種オリゴ糖を与えた場合の盲腸及び結腸におけるカルシウム溶解性の上昇を示す。

【図4】空腸及び回腸断片由来の反転サックにおけるDFA IIIカルシウム吸収亢進を示す。

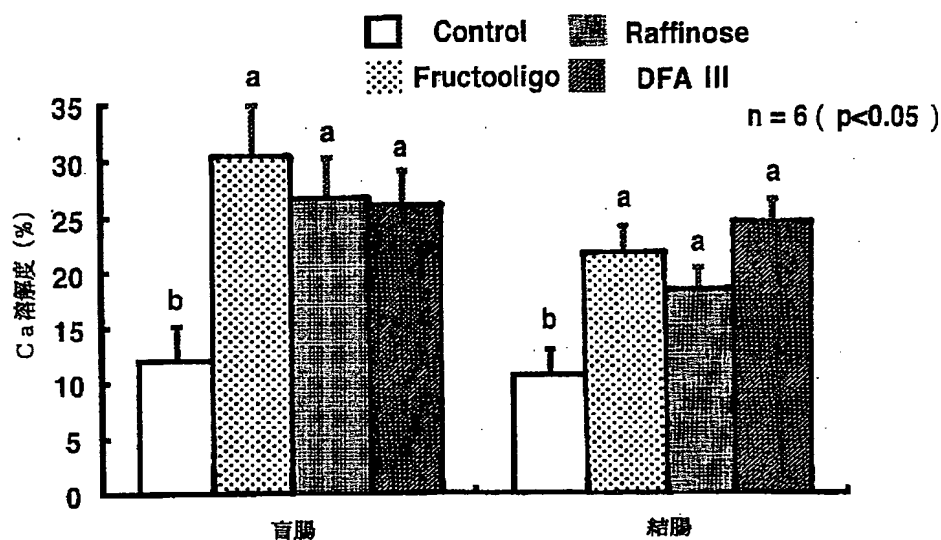
【図 1】



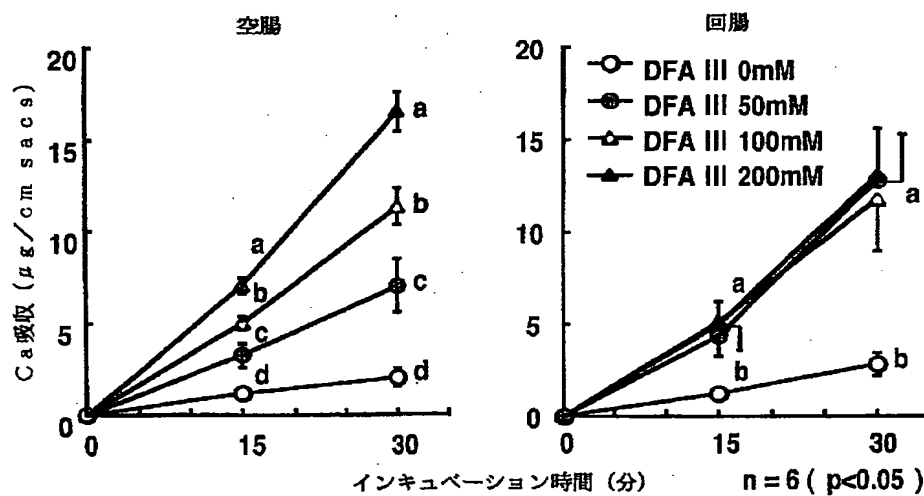
【図 2】



【図 3】



【図 4】



フロントページの続き

(51) Int. Cl. 6

識別記号

F I

// A 61 K 47/26

A 61 K 47/26

E

(72) 発明者 佐山 晃司

北海道帯広市稲田町南9線西13番地 日本
 甜菜製糖株式会社総合研究所内